

Effet de la désinsectisation par le bromure de méthyle sur la viabilité des semences d'arachide décortiquées

A. ROUZIÈRE (1)

Résumé. — Le bromure de méthyle, utilisé pour la désinsectisation des semences d'arachide décortiquées, peut avoir, dans certaines conditions, un effet dépressif sur leur viabilité : — influence de la teneur en eau : alors que le pouvoir germinatif des graines sèches ($< 5,0$ p. 100 d'eau) n'est pratiquement pas affecté par le traitement, même à des concentrations très supérieures aux normes, une nette toxicité est observée dans le cas de graines à teneur en eau plus élevée (> 8 p. 100), y compris pour des traitements peu poussés ; il existe une forte interaction entre la teneur en eau des semences et la durée de l'exposition au gaz ; l'augmentation de l'humidité des graines accentue l'action dépressive de la fumigation ; — effet de cumul : la répétition des traitements au BM, effectués à la dose normale, entraîne dès la 3^e application une diminution de la viabilité des graines. En conclusion, il est recommandé de ne pas dépasser les doses nécessaires à l'obtention de la désinsectisation, et de recourir à d'autres fumigants (phosphure d'hydrogène, par exemple) quand les conditions d'application pourraient rendre le traitement au BM dangereux pour les semences, ou quand celle-ci doivent être retraitées. L'emploi du bromure de méthyle est particulièrement recommandé pour les pays à climat sec, comme ceux du Sahel.

La conservation des semences d'arachide d'une campagne à l'autre ne pose théoriquement pas de problème particulier car, même à température ambiante, le pouvoir germinatif de cette graine n'évolue que très lentement au cours des 8 mois suivant la récolte. Par contre, l'arachide est extrêmement sensible aux attaques des parasites, et seule une protection efficace contre les insectes peut garantir une bonne conservation [Delbosc, 1966].

Le stockage des semences d'arachide s'effectuant le plus souvent en coques et en vrac, la désinsectisation des lots est obtenue pratiquement par poudrage d'insecticide en « sandwich » lors de la constitution des tas ; leur protection contre une réinfestation ultérieure est assurée par des applications périodiques effectuées à la surface des tas, en couverture. Ce système de protection donne de bons résultats quand il est bien conduit [Gillier, Bockelée-Morvan, 1979].

Pour des conservations de plus longue durée, comme c'est le cas avec le système des stocks de sécurité constitués de semences décortiquées, la désinsectisation par poudrage est insuffisante du fait de l'impossibilité de répartir le produit uniformément dans la masse des graines, ce procédé n'assure pas l'éradication totale des insectes. Des populations peuvent se reconstituer à partir des survivants, à l'issue de la période de rémanence de l'insecticide employé, et ce, même à basse température.

C'est pourquoi on a plutôt recours à la fumigation pour traiter les semences destinées à un stockage de longue durée. En effet, ce procédé permet de traiter à cœur la masse de graines, et élimine en principe tout risque de réinfestation interne.

Au Sénégal, le bromure de méthyle est le fumigant le plus employé pour la conservation des produits agricoles. Utilisé tout d'abord par les industriels pour la désinsectisation des denrées alimentaires, et notamment l'arachide de bouche exportée, il a été adopté par les Services de recherche, puis par les Sociétés de développement, pour le traitement des semences en coques [I.R.H.O., 1967 ; Dimanche, 1973]. Le Service Semencier national utilise ce procédé pour la désinsectisation des semences en coques de niveau 1 (15 à 20 000 t/an) et pour la désinsectisation des semences décortiquées de 55-437 devant être stockées à basse température dans les magasins réfrigérés de Louga [Lam, Delbosc, 1978].

En 15 ans d'utilisation au Sénégal, il n'a jamais été relaté de phénomène de toxicité du bromure de méthyle. Pourtant, dans la littérature, de nombreux articles signalent les dangers de l'emploi de ce fumigant dans certaines conditions : graines humides, doses d'application trop élevées ou traitements répétés de mêmes lots [Swamy, 1973 ; Gillenwater, Leesch et Woodward, 1974 ; Gostick, 1970 ; Monro, 1969].

Aussi avons-nous fait démarrer en 1977 une expérimentation devant préciser les conditions dans lesquelles la fumigation au bromure de méthyle (BM) pourrait devenir dangereuse pour les semences décortiquées d'arachide, et notamment déterminer les effets de :

- la dose d'application,
- la teneur en eau des graines,
- la répétition des traitements au BM

dans l'apparition de cette toxicité.

Dans ce but trois séries d'essais ont été conduits de 1978 à 1982 :

- essai préliminaire dose et teneur en eau (1978),
- essai factoriel durée du traitement \times teneur en eau des graines (1979),
- essai cumul (1982).

(1) Ingénieur de Recherche I.R.H.O. détaché à l'I.S.R.A., chargé du Programme Technologie de l'arachide.

— I.R.H.O. (Institut de Recherches pour les Huiles et Oléagineux), 11, square Pétrarque, 75116 Paris (France)

— I.S.R.A. (Institut Sénégalais de Recherches Agricoles), 1, rue de Thiong, B.P. 3120, Dakar (Sénégal).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Conditions générales d'expérimentation.

Semences : ce sont des semences de base produites par la recherche :

- essai 1978 : 55-437 (Spanish), produite en 1977 à la Station I.S.R.A. de Recherches agricoles de Bambeby,
- essai 1979 : 73-33 (Virginia), produite en 1978 à la Station expérimentale I.S.R.A. de Darou,
- essai 1982 : 55-437, produite en 1980 à Louga et stockée ensuite à 8 °C ; 28-206 (Virginia) produite en 1981 à la Station expérimentale I.S.R.A. de Nioro.

Préparation et conditionnement.

Les lots initiaux ont été homogénéisés par passage au tambour mélangeur, puis fractionnés sur le diviseur conique, type USDA, jusqu'à obtenir des lots élémentaires de 1 kg. Les graines ont été alors emballées dans des sachets de toile de coton cousus.

Humidification (Tabl. I).

Les essais ayant eu lieu durant les mois d'avril et mai, en pleine saison sèche, la teneur en eau des semences variait de 3 à 4 p. 100. Les graines devant être humidifiées ont été placées en fût étanche où, à 30 °C, était maintenue une atmosphère présentant un RH de 81 p. 100. Ceci était obtenu grâce à l'incorporation dans le bas du fût d'un bac d'évaporation contenant une solution saturée de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Handbook of Chemistry). L'humidité relative de 81 p. 100 est donnée dans la littérature comme assurant l'équilibre hygroscopique de l'arachide à une teneur de 10 p. 100 d'eau [Pixton et Warburton, 1971].

Des teneurs inférieures ont été obtenues en sortant les lots de graines avant que l'équilibre hygroscopique ne soit atteint ; dans ce cas, les lots humidifiés et non utilisés immédiatement étaient suremballés dans un sac de polyéthylène soudé de 100 microns d'épaisseur, afin d'éviter leur dessèchement.

Les mesures de teneur en eau ont été effectuées selon la norme AFNOR N° NF V 03-902.

Il faut noter que lors du 1^{er} essai les échantillons de 55-437 amenés à 10,0 p. 100 de teneur en eau ont présenté des développements considérables de moisissures diverses (dont *Aspergillus flavus*), accompagnés d'une certaine mortalité. Environ 40 p. 100 des graines ainsi humidifiées avaient un aspect anormal et auraient été rejetées lors d'un

tri de semences. Par la suite, les graines ont été systématiquement fongicidées au mélange bénomyl-captafol, avant d'être soumises à l'humidification.

Gazage.

Une cuve SPAM de 200 litres a été utilisée pour l'application du BM. Cet appareil (Fig. 1) est principalement constitué d'un caisson fermant à sa partie supérieure par un couvercle basculant muni d'un joint élastique à écrasement qui assure l'étanchéité du système. Une prise d'air, située sous le plancher perforé du caisson de chargement, permet l'extraction de son atmosphère intérieure et son renvoi, grâce à une ventilation, soit vers le haut de la cuve (circuit fermé) soit vers l'extérieur (circuit ouvert). Dans ce dernier cas, une alimentation en air frais compense les extractions.

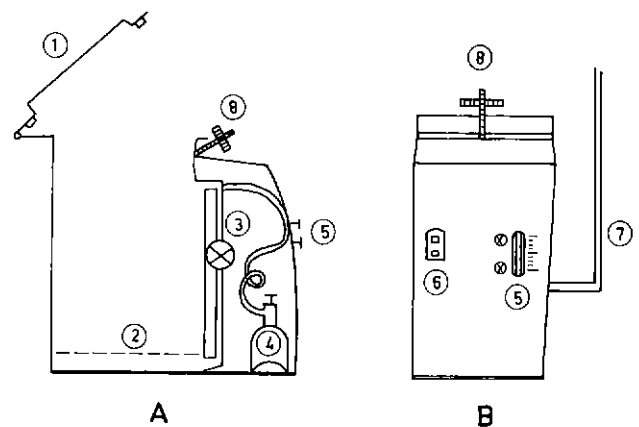


FIG. 1. — Schéma de la cuve SPAM de 200 l (Sketch of 200 l SPAM tank).

A = Coupe longitudinale de la cuve (Longitudinal section of tank),
B = Vue de face de la cuve (Front view of tank).

- 1 — Couvercle basculant (Hinged cover).
- 2 — Fond perforé (Perforated base).
- 3 — Système de ventilation (Ventil. system).
- 4 — Bouteille de BA (Gas bottle).
- 5 — Bromidoseur (tube, graduations, vannes) (Bromidosimeter-graduated tube, stop-valves).
- 6 — Commande du ventilateur (Ventilator control device).
- 7 — Evacuation du gaz (Gas outlet).
- 8 — Fermeture du couvercle (Cover lock).

Le circuit du BM comprend une bouteille de 8 kg de gaz liquéfié alimentant, sous pression, un tube de verre gradué où la dose de BM à employer peut être mesurée par volumétrie ; ce tube transparent, qui constitue l'essentiel du « bromidoseur », est placé entre deux vannes d'arrêt, dont l'une permet son remplissage en BM liquide et l'autre l'injection du gaz dans le circuit de ventilation.

Du fait de la pression importante exercée par le gaz et de la section trop forte de la tuyauterie et des vannes, il était assez difficile d'obtenir le volume de BM désiré dans le bromidoseur, surtout dans le cas de doses faibles. C'est ce qui explique que, dans l'essai de 1979, on a préféré fixer la concentration à une valeur assez élevée et faire varier la durée du traitement, plutôt que de procéder inversement.

Le caisson de gazage était rempli à environ 50 p. 100 de sa capacité par les sacs devant être traités, auxquels on ajoutait un remplissage de graines d'arachide de façon à amener le poids total du chargement à 60 kg.

Après transvasement dans le bromidoseur d'un volume donné de BM liquide, le circuit de ventilation était mis en route, puis la vanne d'injection ouverte. Le gaz était alors rapidement entraîné dans la cuve.

TABLEAU I. — Durée de l'humidification nécessaire pour faire passer les teneurs en eau des semences à 1 valeur « H »

(Length of humidifying required to raise the seed moisture content to a value « H »)

Variété (Variety)	Teneur en eau (Moisture content) (p. 100) : H			
	Durée de l'humidification (en jours) (Length of humidification, in days)			
	5	8	15	20
73-33	6,1	6,6	8,2	9,1
55-437	—	—	10,0	—

A l'issue du traitement, la cuve était ventilée pendant 1 h, avec renouvellement constant de son atmosphère, avant d'être ouverte. Les sacs étaient sortis aussitôt et placés dans un local bien ventilé où ils étaient stockés pendant 5 jours avant d'être ouverts pour analyse.

Évaluation de la viabilité : les tests, effectués après ce délai de 5 jours, portaient sur 2 fois 50 graines par répétition. Les semences étaient toujours fongicides.

Trois techniques ont été utilisées durant le déroulement des essais :

— Test de levée en caissette (semis dans du sable humide, début des comptages 8 jours après le semis ; fin des comptages au 15^e jour : sont considérées comme ayant levé les graines ayant donné une plantule arrivée au stade 4 feuilles ou plus). Ce test a été employé pour le 1^{er} essai.

— Test de viabilité au tétrazolum [Crinquette, 1974] utilisé pour l'essai factoriel.

— Test classique de germination en étuve (28 °C, 96 h), employé en 1982.

Dans le cas des tests de levée ou de germination, des mesures de l'énergie germinative ont pu être effectuées.

Protocole des essais.

— Essai dose-teneur (1978) :

- 4 doses différentes d'application de bromure de méthyle (durée de traitement : 24 h) : 13, 30, 50 et 65 g/m³, et un témoin non traité ;
- 2 teneurs en eau : 3,5 et 10,0 p. 100 ;
- 2 répétitions par objet.

— Essai factoriel durée × teneur (1979) :

- 3 durées de traitement et un témoin non traité (0, 6, 12 et 24 h) ;
- 1 concentration de gaz : 50 g/m³ ;
- 4 teneurs en eau : 6,1 ; 6,6 ; 8,2 ; 9,1 p. 100 ;
- 2 répétitions par objet.

— Essai cumul (1982) :

- traitement élémentaire : 50 g/m³ pendant 6 h ;
- 2 variétés ;
- 1/5 des échantillons traités 1 fois : 1/5, 2 fois : 1/5, 3 fois : 1/5, 4 fois, et un témoin non traité ;
- 3 répétitions par objet.

RÉSULTATS. DISCUSSIONS

— Essai dose-teneur (Tabl. II, Fig. 2 et 3).

Le traitement des semences au bromure de méthyle a un effet dépressif sur leur taux de levée et leur énergie germinative, l'intensité du phénomène s'accroissant avec des teneurs en eau croissantes. L'étude des régressions linéaires montre qu'à 3,5 p. 100 d'H, la pente, négative, est très faible et non significative, alors qu'à 10 p. 100 l'effet dépressif est hautement significatif avec 1 pente 10 fois supérieure.

En ce qui concerne les énergies germinatives, la perte de vitalité induite par le gazage est encore plus nette et plus rapide ; les régressions linéaires effectuées sur ces données sont valides ($P = 0,05$), y compris dans le cas des graines sèches.

TABLEAU II. — Effet de la dose de bromure de méthyle sur le pouvoir germinatif (*) des arachides décortiquées (55-437, traitements de 24 h)

(Effect of the rate of MB on the germinative power (*) of shelled groundnuts ; 55-437, 24-hour treatment)

Teneur en eau des graines (Moisture content of seeds) (p. 100)	Dose de BM (Rate of MB) (g/m ³)				
	0	13	30	50	65
3,5	90	85	92	84	86
10,0	50	29	7	13	3

(*) Données traitées après transformation angulaire $X' = \arcsin X$ (Data processed after transformation angular $X' = \arcsin X$).

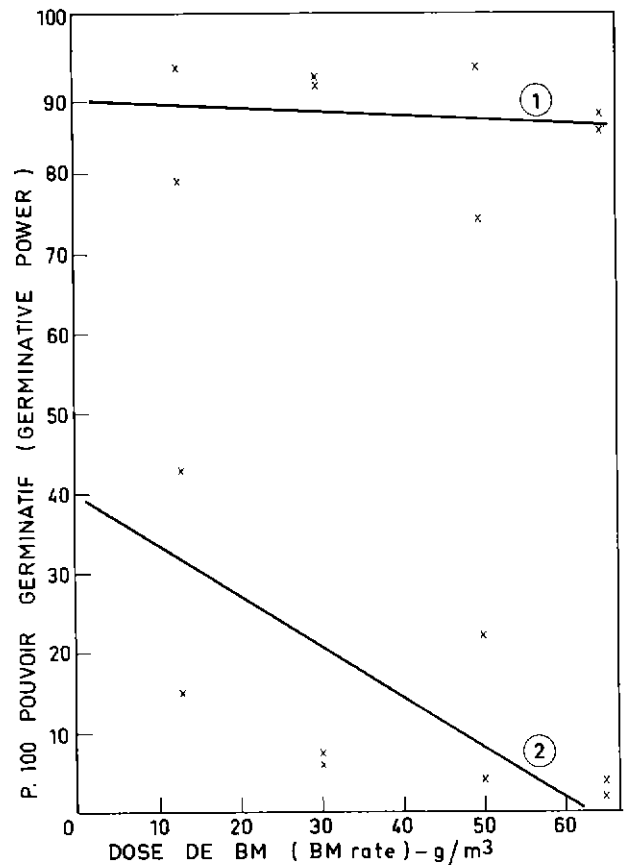


FIG. 2 — Evolution du pouvoir germinatif de la 55-437 traitée par diverses doses de BM (Evolution of germinative power of 55-437 treated at different MB rates)

- (1) $H = 3,5 \%$: $89 - 0,06$ (dose-rate) $r \sim -0,25$.
- (2) $H = 10,0 \%$: $40 - 0,64$ (dose-rate) $r \sim -0,77$.

La mauvaise viabilité des graines à 10 p. 100 d'H, dont la qualité s'est fortement dégradée au cours de l'opération, n'a pas masqué l'expression de l'effet toxique du BM ; son action dépressive est même hautement significative.

A partir des résultats de cet essai, il semblait intéressant de reprendre l'expérimentation pour déterminer la nature de l'interaction bromure de méthyle/teneur en eau, pour des graines moins humides que dans l'essai précédent et des traitements au BM plus poussés.

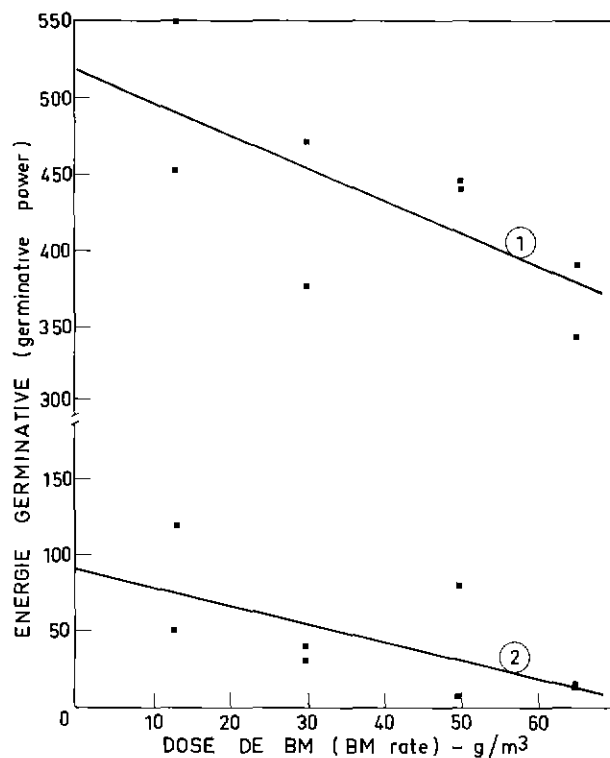


FIG. 3. — Evolution de l'énergie germinative de la 55-437 traitée par diverses doses de BM (Evolution of germinative energy of 55-437 treated at different MB rates).

(1) $H = 3,5 \%$; $518 - 2,14$ (dose-rate) $r = -0,71$
 (2) $H = 10,0 \%$; $91 - 1,18$ (dose-rate) $r = -0,65$.

— Essai factoriel durée \times teneur (Tabl. III, Fig. 4 et 5).

Il était prévu pour cet essai d'utiliser des graines dont la teneur en eau serait étalée régulièrement de 6 à 9 p. 100. Cela n'a malheureusement pas été possible, et l'analyse statistique en a été considérablement compliquée.

TABLEAU III. — Effet de la durée d'application du bromure de méthyle sur le potentiel germinatif (*) des arachides décortiquées (dose appliquée : 50 g/m^3 ; cas de la 73-33)

(Effect of the length of application of MB on the germinative potential (*) of shelled groundnuts ; rate applied : 50 g/m^3 ; case of 73-33)

Durée du traitement (h) (Length of treatment)	Teneur en eau des graines (Moisture content of seeds) (p. 100)				Moyennes (Means)
	6,1	6,6	8,2	9,1	
0	79,8	76,5	85,5	78,5	80,1
6	78,3	75,8	73,5	75,5	75,8
12	77,0	71,3	67,5	70,3	71,5
24	77,5	71,0	69,5	66,3	71,1
Moyennes (Means)	78,1	73,6	74,0	72,6	74,6

(*) Données traitées après transformation angulaire $X' = \arcsin X$ (Data processed after transformation angular $X' = \arcsin X$).

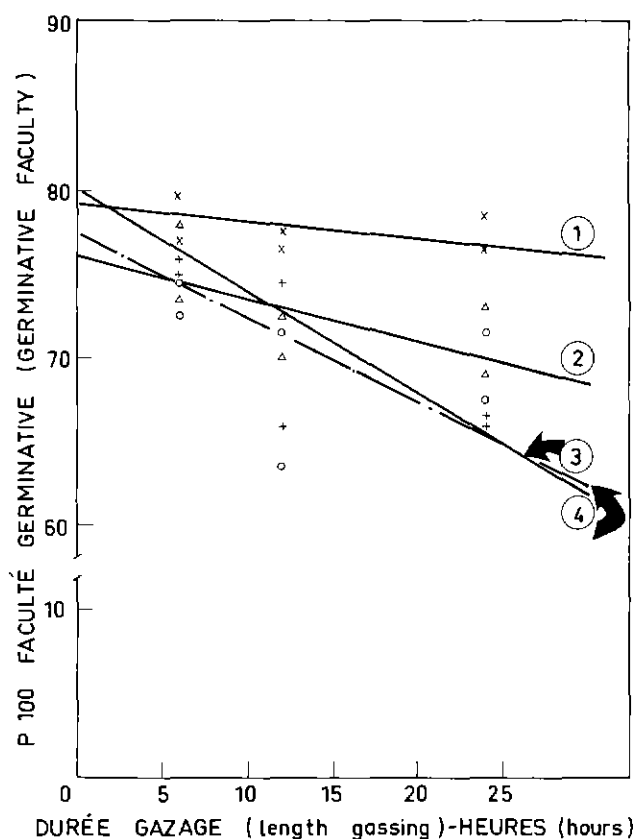
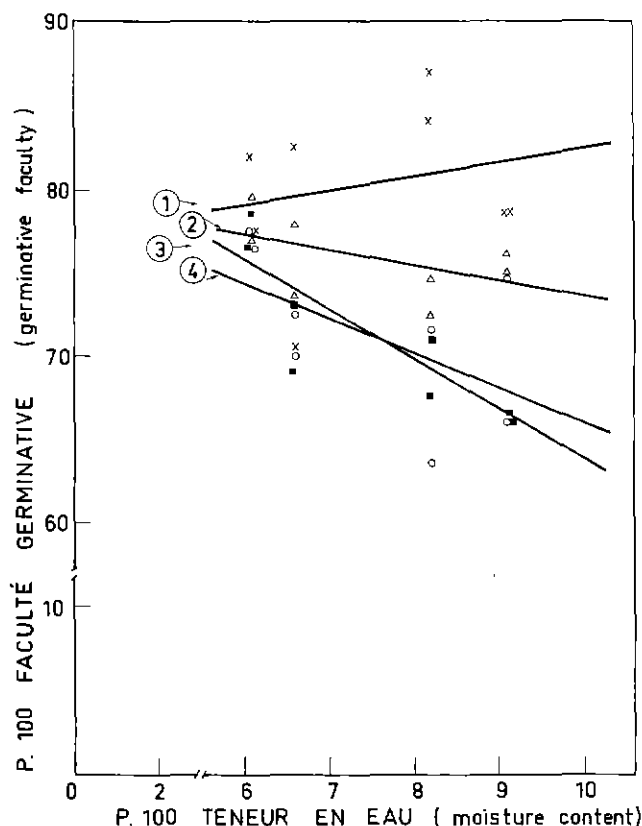


FIG. 4. — Evolution de la faculté germinative de la 73-33 traitée au BM en fonction de la durée du gazage (Evolution of germinative faculty of 73-33 treated with MB, in function of the length of gassing).

\times (1) $H = 6,1 \%$; $79 - 0,09$ (durée-length) $r = -0,45$.
 \triangle (2) $H = 6,6 \%$; $76 - 0,25$ (durée-length) $r = -0,52$.
 \circ (3) $H = 8,2 \%$; $80 - 0,60$ (durée-length) $r = -0,72$.
 $+$ (4) $H = 9,1 \%$; $78 - 0,52$ (durée-length) $r = -0,89$.



Néanmoins, les résultats obtenus permettent de penser que pour des semences de 73-33 traitées au BM à la dose de 50 g/m³ :

— la faculté germinative des graines à teneur en eau comprise entre 6 et 9 p. 100 diminue quand la durée du traitement augmente selon une loi qui comprend 1 terme linéaire à faible pente ($P = 10^{-4}$) et un terme quadratique ($P = 0,01$) qui induit un fort effet dépressif, s'atténuant avec l'augmentation de la durée du traitement ;

— la faculté germinative des graines soumises à un traitement au BM pendant une durée variant de 0 à 24 h diminue quand leur teneur en eau augmente selon une loi linéaire ($P = 0,03$) ;

— l'interaction : durée du traitement/teneur en eau, accentue fortement l'effet toxique du bromure de méthyle ; ce sont les termes linéaires des deux réactions qui interagissent le plus ($P = 0,06$).

D'ailleurs, l'accroissement des pentes des droites de régression apparaît très nettement, au niveau des figures 4 et 5, quand la teneur en eau des graines, ou la durée du traitement, augmente.

C'est ainsi que, par analyse de régression linéaire, on calcule que la valeur absolue de la pente de la droite « faculté germinative/teneur en eau » s'accroît de 0,23 quand la teneur en eau augmente de 1 p. 100 ; de même, la valeur absolue de la pente de la droite « faculté germinative/durée du traitement » augmente de 0,17 quand le traitement est prolongé de 1 h.

De ces différentes analyses, on peut déduire quelques conclusions à visées pratiques quant aux conditions d'utilisation du traitement au bromure de méthyle :

— pour une durée d'application de 6 h, ce qui à 30 °C et pour un dosage de 50 g/m³ correspond à un traitement normal de désinsectisation, les risques de toxicité sont très limités et ce, quelle que soit la teneur en eau des graines ; dans ces conditions, la faculté germinative des semences à 9 p. 100 d'eau ne chute que de 5 p. 100 par rapport à sa valeur avant traitement ;

— pour une teneur en eau de 6 p. 100, l'application du traitement recommandé à 30 °C (50 g/m³ pendant 6 h), ne fait pratiquement pas baisser la faculté germinative. Si l'application de ce même traitement est prolongée jusqu'à 24 h (soit 4 fois la durée nécessaire), la diminution de la faculté germinative ne dépasse pas 3 p. 100 de la valeur de départ ;

— à 7 p. 100 d'eau, le doublement de la durée normale de fumigation entraîne une perte de pouvoir germinatif de 5 p. 100 de la valeur initiale ;

— enfin, à 8 p. 100 de teneur en eau, la faculté germinative des semences diminue de 4 p. 100 quand on applique simplement le traitement normal.

La teneur en eau de 8 p. 100 constitue donc la limite au-delà de laquelle l'emploi du BM doit être proscrit pour la désinsectisation des semences d'arachide. Son utilisation dans le cas d'humidités supérieures ne pourrait se faire sans conséquence néfaste qu'en ramenant les paramètres du traitement en deçà des valeurs permettant l'élimination des insectes ; sinon, la qualité semencière des lots traités serait gravement amoindrie.

L'évaluation de la viabilité des graines par le test au tétrazolium a permis de déterminer plus précisément les symptômes de la toxicité du BM. Ils étaient particulièrement nets pour les graines à fortes teneurs en eau, traitées pendant 12 à 24 h. Des nécroses ont été observées au niveau des embryons (plumules et radicule) et surtout au niveau des cotylédons. Le plus souvent, ces derniers présentaient une surface totalement morte (couleur blanc-gris dans le test au tétrazolium) recouvrant des tissus cotylédonaux très lésés (couleur rouge-lie de vin).

— *Essai cumul* (Tabl. IV et V).

On constate qu'un lot de graines sèches (4 p. 100 de teneur en eau) désinsectisé par une exposition normale au bromure de méthyle ne peut être retraité par ce même fumigant qu'une seule fois sans diminution de sa qualité semencière ; au-delà, le pouvoir germinatif de l'arachide chute brutalement : — 20 p. 100 de la valeur initiale dès le 3^e traitement.

L'énergie germinative des semences diminue de 10 p. 100 après le premier retraitement, pour tomber à moins de 60 p. 100 de sa valeur initiale à la 3^e fumigation.

TABEAU IV. — Effet de la répétition des traitements au BM sur le pouvoir germinatif de l'arachide décortiquée (50 g/m³ pendant 6 h, à 30 °C, cas de la 28-206 et de 55-437)

(Effect of the repetition of MB treatments on the germinative power of shelled groundnuts ; 50 g/m³ for 6 h at 30 °C, case of 28-206 and 55-437) (p. 100)

Variété (Variety)	Nombre de traitements appliqués (Number of treatments applied)			
	1	2	3	4
28-206	99 (99)	97 (96)	73 (92)	69 (95)
55-437	99 (99)	99 (99)	81 (96)	69 (97)

N.B. : Non traité entre parenthèses (Untreated in brackets).

TABEAU V. — Effet de la répétition des traitements au BM sur l'énergie germinative de l'arachide décortiquée

(Effect of the repetition of MB treatments on the germinative energy of shelled groundnuts)

Variété (Variety)	Nombre de traitements appliqués (Number of treatments applied)			
	1	2	3	4
28-206	235 (250)	218 (241)	128 (233)	156 (243)
55-437	248 (252)	226 (256)	146 (243)	148 (247)

CONCLUSIONS

• La toxicité du bromure de méthyle vis-à-vis des graines d'arachide humides a été vérifiée ; si l'utilisation de ce fumigant ne présente aucun danger pour les semences sèches (la dose normale d'application pouvant même être multipliée par 3 ou 4), le traitement au BM doit être utilisé avec beaucoup de précautions quand la teneur en eau des graines dépasse 6 p. 100, et proscrit à partir de 8 p. 100.

FIG. 5. — Evolution de la faculté germinative de la 73-33 traitée au BM en fonction de la teneur en eau des graines (Evolution of germinative faculty of 73-33 treated with MB, in function of seed moisture content).

$$\begin{aligned}
 (1) D &= 0 : 74 + 0,85 (H) \quad r = 0,22. \\
 (2) D &= 6 : 83 - 0,94 (H) \quad r = -0,52 \\
 (3) D &= 12 : 87 - 2,1 (H) \quad r = -0,56. \\
 (4) D &= 24 : 94 - 3,0 (H) \quad r = -0,84.
 \end{aligned}$$

• La répétition de traitements unitaires au BM pour la désinsectisation d'un même lot de graines entraîne, par effet de cumul, une dégradation de sa valeur semencière.

Pratiquement, des graines sèches peuvent être retraitées une fois sans dommage important ; par contre, si la teneur en eau des semences dépasse 6 p. 100, il semble préférable, pour réaliser la seconde désinsectisation, de choisir un autre procédé ou un autre fumigant, comme le phosphore d'hydrogène.

• Lors des tests de germination ou de levée effectués à l'occasion du contrôle de la viabilité des semences, il est recommandé de noter l'énergie germinative.

En effet, l'examen de ce dernier paramètre permet de suspecter, pour certains lots de graines à pouvoir germinatif élevé, une susceptibilité à la dégradation de leur valeur semencière ; dans de tels cas, la fumigation au BM doit être évitée, comme d'ailleurs tous les autres traitements « stressants ».

Tous ces résultats recoupent parfaitement la littérature parue sur le sujet [Monro, 1969 ; Leesch *et al.*, 1979].

Il faut remarquer ici que les auteurs, et notamment ceux des pays anglo-saxons, présentent ce fumigant comme un insecticide d'emploi dangereux pour le traitement des semences.

Le fait qu'au Sénégal, et même dans toute la zone sahélienne, aucun accident dû à l'usage du BM n'ait été rapporté en 15 ans d'utilisation nous incite à penser que cette opinion défavorable doit être fortement nuancée. Il est

bien évident que les conditions climatiques du Mali par exemple étant très différentes de celles du Nigeria, les risques d'accident ne sont pas du même ordre de grandeur dans les deux pays. Il paraît logique de recommander l'emploi du BM dans les zones à climat sec, et celui de l'hydrogène phosphoré pour les pays à hygrométrie plus élevée. Il pourrait sembler plus simple d'abandonner l'utilisation du BM. En fait, l'usage de l'hydrogène phosphoré n'est pas bien adapté au cas des pays secs, sa libération à partir de pastilles de phosphore d'aluminium nécessitant une certaine hygrométrie de l'air ambiant. C'est ainsi qu'au Sénégal, l'hydrolyse des tablettes peut prendre plusieurs jours.

D'autre part, le bromure de méthyle présente de gros avantages au niveau de son application :

— fourni sous forme de gaz, il est facilement injecté dans l'enceinte de traitement. D'ailleurs, c'est le seul fumigant permettant d'utiliser des procédures ultra-rapides, comme le traitement en « autoclave »,

— la concentration désirée est atteinte immédiatement, ce qui raccourcit beaucoup la durée du traitement.

Enfin, dans une étude sur la résistance des parasites aux insecticides menée au niveau de l'Afrique de l'Ouest, il a été décompté deux fois moins de lignées résistant au bromure de méthyle que de lignées résistant à l'hydrogène phosphoré [F.A.O., 1977].

Ceci justifie amplement que l'on continue à utiliser ce fumigant, là où les conditions le permettent.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] DELBOSC G. (1966). — Les parasites des stocks d'arachides *Oléagineux*, 21, N° 5, p. 293-296.
- [2] GILLIER P. et BOCKELÉE-MORVAN A. (1979). — La protection des stocks d'arachide contre les insectes. *Oléagineux*, 34, N° 3, p. 131-134.
- [3] I.R.H.O. (1967). — Conservation et désinsectisation des semences d'arachides en coque par traitement gazeux. *Oléagineux*, 22, N° 10, p. 607-610.
- [4] DIMANCHE P. H. (1973). — La protection des stocks. Désinsectisation des semences d'arachide en coques au bromure de méthyle en chambres de fumigation. *Oléagineux*, 28, N° 10, p. 453-455.
- [5] LAM M. et DELBOSC G. (1978). — Conservation des semences d'arachide en magasins réfrigérés (trilingue fr.-angl.-esp.). *Oléagineux*, 33, N° 3, p. 123-128.
- [6] SWAMY P. M. (1973). — Effect of methyl bromide fumigation on germination and metabolism of the seeds of groundnut. *Indian J. agric. Sci.*, 43, N° 3, p. 274-279.
- [7] LEESCH S. G., GILLENWATER H. B., WOODWARD J. O. (1974). — Methyl bromide fumigation of shelled peanuts in bulk containers. *J. econ. Entom.*, 67, N° 6, p. 769-771.
- [8] GOSTICK K. G. (1970). — The effect of methyl bromide on seed germination. *EPPO Publ. Ser. D. Eur. Mediterr. Pl. Prot. Org.*, N° 15, p. 33-38.
- [9] MONRO HAU. (1969). — Manual of fumigation for insect control. 2^e édition, *F.A.O. Agric. Studies*, N° 29, 381 p.
- [10] PIXTON S. W. and WARBURTON S. (1971). — Moisture content relative humidity equilibrium, at different temperatures, of some oilseeds of economic importance. *J. Stored Prod.*, 7, p. 261-269.
- [11] AFNOR (1978). — Recueil de normes françaises des corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés. *Ed. : AFNOR*, 7 (370 p.), p. 214-216.
- [12] CRINQUETTE J. P. (1974). — Détermination du pouvoir germinatif des graines d'arachide et de leur viabilité par le test au tétrazolum. *Oléagineux*, 29, N° 5, p. 243-245.
- [13] LEESCH J. G., GILLENWATER H. B., DAVIS R. and WILSON R., Jr. (1979). — Phosphine and methyl bromide fumigation of shelled peanuts. *Peanut Sci.*, 6, N° 1, p. 18-26.
- [14] F.A.O. (1977). — Bulletin phytosanitaire. *F.A.O.*, 25, N° 2, p. 49-67.

SUMMARY

Effect of disinsectization by methyl bromide on the viability of shelled groundnut seed.A. ROUZIÈRE, *Oléagineux*, 1983, **38**, N° 4, p. 243-251.

In certain conditions, the methyl bromide used for the disinsectization of shelled groundnut seed can have a depressive effect on their viability : — influence of the moisture content : whereas the germinative power of dry seeds (< 5 p. 100 water) is virtually unaffected by the treatment, even at concentrations very much greater than normal, marked toxicity appears when the seeds have a higher moisture content (> 8 p. 100), even when the treatment is not very advanced ; there is a strong interaction between seed humidity and the length of exposure to the gas, an increase in the first accentuating the depressive action of fumigation ; — cumulative effect : the repetition of MB treatments at the normal rate leads to a reduction in seed viability by the third application. In conclusion, it is recommended that the rates needed for complete disinsectization should not be exceeded, and that other fumigants (e. g. hydrogen phosphide) should be used when the conditions of application might make the MB treatment dangerous for seed, or when the latter have to be treated again. The use of methyl bromide is particularly recommended in countries with a dry climate, like those of the Sahel.

RESUMEN

Efecto de la desinsectación con bromuro de metilo en la viabilidad de las semillas de mani descascaradas.A. ROUZIÈRE, *Oléagineux*, 1983, **38**, N° 4, p. 243-251.

El bromuro de metilo, que se emplea en la desinsectación de las semillas de mani descascaradas, puede tener, en ciertas condiciones, un efecto depresivo sobre su viabilidad : — influencia del contenido de agua : cuando el poder germinativo de las semillas secas (< 5,0 % de agua) casi no sufre ningún efecto por el tratamiento, hasta en unas concentraciones muy superiores a las normas, se observa una toxicidad nítida en el caso de semillas de contenido de agua más alto (> 8 %), hasta para tratamientos poco intensivos ; hay una fuerte interacción entre el contenido de agua de las semillas y la duración de exposición al gas ; el aumento de humedad de las semillas acentúa el efecto depresivo de la fumigación ; — efecto de acumulación : la repetición de los tratamientos con BM en la dosis normal trae una disminución de la viabilidad de la semillas a partir de la 3ra aplicación. En conclusión, se recomienda no rebasar las dosis necesarias para lograr la desinsectación, recurriéndose a otros fumigantes (por ejemplo fosfuro de hidrógeno) cuando las condiciones de aplicación podrían hacer que el tratamiento con BM fuera peligroso para las semillas, o cuando se debe tratarlas nuevamente. Se recomienda particularmente el uso de bromuro de metilo para los países de clima seco, como en la zona del Sahel.

Effect of disinsectization by methyl bromide on the viability of shelled groundnut seed

A. ROUZIÈRE (1)

Theoretically, the keeping of groundnut seed from one season to the next poses no special problems, because even at surrounding temperature the germinative power of the seed evolves very slowly during the 8 months following harvesting. On the other hand, the groundnut is extremely sensitive to pests, and only efficient protection against insects will guarantee good conservation [Delbosc, 1966].

Groundnut seed is usually stored unshelled and in bulk ; disinsectization of the lots is done by « sandwiching » powdered insecticide between the layers of pods when the heap is built up. Their protection against later reinfestation is ensured by periodical blanket applications to the surface of the heaps. When properly done, this system of protection gives good results [Gillier, Bockelée-Morvan, 1979].

For longer storage, as in the case of emergency stocks of shelled seed, disinsectization by dusting is insufficient : because it is impossible to spread the product evenly throughout the mass, this procedure does not get rid of all the insects. Populations may build up again from the survivors when the remanence of the insecticide used is over, and this can happen even at low temperatures.

This is why seed intended for long-term storage is generally treated by fumigation. In fact, this method makes it possible to

treat right into the heart of the mass, and in principle eliminates all risk of internal reinfestation.

In Senegal, methyl bromide is the fumigant most commonly used for the preservation of agricultural products. First employed by industrialists to remove insects from food products, and notably exported edible groundnuts, it was adopted by the Research Services, then by the Development Corporations, for treating unshelled seed [I.R.H.O., 1967 ; Dimanche, 1973]. The National Seed Services uses this procedure for the disinsectization of unshelled Level 1 seed (15-20,000 t/year) and that of shelled 55-437 seed to be kept at low temperature in the cold stores of Louga [Lam, Delbosc, 1978].

In 15 years of use in Senegal, no case of toxicity of methyl bromide has ever been reported. Yet, in the literature numerous articles point out the danger of using this fumigant in certain conditions : moist seeds, excessive treatment rates, repeated treatment of the same lots [Swamy, 1973 ; Gillenwater, Leesch and Woodward, 1974 ; Gostick, 1970 ; Monro, 1969].

In 1977, therefore, we started experimentation with the object of defining the conditions in which methyl bromide (MB) fumigation might become dangerous for shelled groundnut seed, and in particular to find out the influence of :

- the rate of application,
- the moisture content of the seeds,
- the repetition of MB treatments, on the appearance of this toxicity.

To this end, three series of trials were conducted from 1978 to 1982 :

- preliminary trial, rate and moisture content (1978),
- factorial trial, length of treatment × seed moisture content (1979),
- trial of the cumulative effect of repeated treatments (1982).

(1) I.R.H.O. Research worker posted to I.S.R.A., in charge of Groundnut Technology Programme.

— I.R.H.O. (Institut de Recherches pour les Huiles et Oléagineux), 11, square Pétrarque, 75116 Paris (France).

— I.S.R.A. (Institut Sénégalais de Recherches Agricoles), 1, rue de Thiong, B.P. 3120, Dakar (Sénégal).

MATERIAL AND METHODS

General conditions of the experimentation.

Seed : this was basic seed produced by research :

- 1978 trial : 55-437 (Spanish), produced in 1977 on the I.S.R.A. Agricultural Research Station, Bambej,
- 1979 trial : 73-33 (Virginia), produced in 1978 on the I.S.R.A. Experimental Station at Darou,
- 1982 trial : 55-437, produced in 1980 at Louga and then stored at 8 °C ; 28-206 (Virginia) produced in 1981 on the I.S.R.A. Experimental Station at Nioro.

Preparation and conditioning.

The initial lots were homogenized in a drum mixer, then split on a USDA-type cone-shaped divider to obtain separate 1-kg lots. The seeds were then packed in calico bags which were sewn up.

Moistening (Table I).

As the trials took place in April and May, in the heart of the dry season, the moisture content of the seeds was from 3-4 p. 100. They had to be humidified, and were placed in an air-tight drum in which, at 30 °C, an atmosphere with a relative humidity of 81 p. 100 was maintained ; this was achieved by means of an evaporating dish containing a saturated solution of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Handbook of Chemistry) incorporated in the base of the drum. An RH of 81 p. 100 is quoted as being that which assures the moisture balance of the groundnut at a water content of 10 p. 100 [Pixton and Warburton, 1971].

Lower contents were obtained by taking out the seed lots before the moisture balance was reached ; in this case, the humidified lots not used immediately were put in an outside envelope of sealed polythene (thickness 100 μ) to stop them drying up.

The moisture content measurements were made according to AFNOR norm No. NF V 03-902.

It is to be noted that during the first trial, on the 55-437 samples brought to a moisture content of 10 p. 100 there was considerable development of assorted moulds (including *Aspergillus flavus*), accompanied by a certain death toll. About 40 p. 100 of the moistened seeds looked abnormal and would have been rejected if screened. Later, the seeds were systematically fungicided with a benomyl-captafol mixture before being humidified.

Gassing.

A 200-l S.P.A.M. tank was used for the application of MB. This apparatus (Fig. 1) consists mainly of a body closed by a hinged lid fitted with a tight-fitting rubber gasket ensuring hermetic closure of the system. An air inlet under the perforated base of the loading box allows the extraction of the internal atmosphere and its channeling, thanks to ventilation, either to the top of the tank (closed circuit) or towards the outside (open circuit). In the latter case, a fresh air feed compensates the extraction.

The MB circuit includes an 8-kg bottle of liquid gas supplying under pressure a graduated glass tube on which the rate of MB to be used can be measured by volumetry ; this transparent tube, the essential element of the « bromidosimeter », is placed between two stop-valves, one enabling its filling with liquid MB, the other the injection of gas into the ventilation circuit.

Because of the high pressure exerted by the gas and the over-large diameter of the piping and valves, it was fairly difficult to get the required volume of MB in the bromidosimeter especially with low rates. This was why, in the 1979 trial, we preferred to fix the concentration at quite a high value and vary the length of treatment, rather than the other way round.

The gas tank was filled to about half its capacity with the bags to be treated, and a filler of groundnut seeds added to bring the total weight of the load up to 60 kg.

After decanting of a given volume of liquid MB into the bromidosimeter, the ventilation circuit was started up, then the injection valve opened, and the gas quickly escaped into the tank.

At the end of the treatment, the tank was ventilated for an hour before being opened, its atmosphere being repeatedly renewed. The bags were taken out straight away and placed in a well-aired room, where they were stored for five days before being opened for analysis.

Evaluation of viability : the tests carried out after this 5-day

delay were done on 2×50 seeds per replication. The seeds were always fungicided.

Three techniques were used throughout the trials :

— Test of planting in seed trays (sowing in damp sand, counting starts 8 days after sowing and ends on the 15th day : are considered as having sprouted seeds which have given a seedling which has reached the 4-leaf stage or more). This test was used for the first trial.

— Tetrazolium viability test [Crinquette, 1974], used for the factorial trial.

— Standard germination test in the oven (28 °C, 96 hours), used in 1982.

In the case of the sprouting or germination tests, it was possible to measure germinative energy.

Trial plans.

— Trial rate-content (1978) :

- 4 different rates of MB application (treatment lasting 24 hours) : 13, 30, 50 and 65 g/m³ — and an untreated control ;
- 2 moisture contents : 3.5 and 10 p. 100 ;
- 2 replications per treatment.

— Factorial trial, length of treatment \times content (1979) :

- 3 lengths of treatment (0, 6, 12 and 24 h) and an untreated control ;
- 1 gas concentration : 50 g/m³ ;
- 4 moisture contents : 6.1, 6.6, 8.2, 9.1 p. 100 ;
- 2 replications per treatment.

— Cumulative effect trial (1982) :

- elementary treatment : 50 g/m³ for 6 hours ;
- 2 varieties ;
- 1/5 of the samples treated once, 1/5 twice, 1/5 thrice, 1/5 four times, and a untreated control ;
- 3 replications per treatment.

RESULTS. DISCUSSION

Rate-content Trial (Table II, Figs. 2 and 3).

The methyl bromide treatment of the seeds has a depressive effect on their sprouting rate and germinative energy, the intensity of the phenomenon increasing in proportion to the moisture content. Study of the linear regressions shows that at 3.5 p. 100 H the slope, negative, is very slight and not significant, whereas at 10 p. 100 the depressive effect is highly significant, with a slope then times greater.

As regards germinative energy, the loss of vitality due to gassing is still more marked and rapid ; the linear regressions applied to these data are valid ($P = 0.05$), including those for dry seeds.

The poor viability of seeds with 10 p. 100 moisture, the quality of which seriously deteriorated during the operation, did not disguise the toxic effect of MB ; its depressive action is even highly significant.

In the light of the results of this trial, it appeared to be a good idea to start experimentation again to determine the nature of the MB \times moisture content interaction with seeds less humid than in the previous trial and with stronger MB treatments.

Factorial trial, length of treatment \times moisture content (Table III, Figs. 4 and 5).

For this trial it was planned to use seeds with moisture contents spaced out regularly from 6 to 9 p. 100. Unfortunately, this was not possible, which complicated the statistical analysis very considerably.

Nevertheless, the results obtained suggest that for 73-33 seeds treated with MB at the rate of 50 g/m³ :

— the germinative faculty of seeds with a 6-9 p. 100 moisture content declines as the treatment lengthens, according to a law which includes one linear term of slight slope ($P = 10^{-4}$) and one quadratic term ($P = 0.01$) which induces a strong depressive effect attenuating with the increase in the length of the treatment ;

— the germinative faculty of seeds submitted to MB treatment for anything from 0 to 24 hours decreases as their moisture content rises according to a linear law ($P = 0.03$) ;

— the interaction : length of treatment \times moisture content

strongly accentuates the toxic effect of MB ; it is the linear terms of the two reactions which interact the most ($P = 0.06$).

Moreover, the increase in the slope of the regression lines appears very clearly in Figs. 4 and 5 when the moisture content of the seeds or the length of the treatment increase.

It is in this way that, by analysis of linear regression, it is calculated that the absolute value of the slope of the line « germinative faculty/moisture content » increases by 0.23 when the moisture content rises by 1 p. 100 ; similarly, the absolute value of the slope of the line « germinative faculty/length of treatment » rises by 0.17 when the treatment is prolonged for 1 hour.

From these different analyses, we can draw a few conclusions of practical import as to the conditions in which methyl bromide treatment is used :

- when application lasts 6 hours, which, at 30 °C and at the rate of 50 g/m³, corresponds to normal disinsectization treatment, the risk of toxicity is very limited, whatever the moisture content of the seeds ; in such conditions, the germinative faculty at 9 p. 100 moisture is only 5 p. 100 than that before treatment ;

- for a moisture content of 6 p. 100, the application of the treatment recommended, at 30 °C and 50 g/m³ for 6 hours, hardly reduces the germinative faculty at all. If treatment is prolonged to 24 hours (or 4 times the time required), the reduction in germinative faculty does not exceed 3 p. 100 of the initial value ;

- at 7 p. 100 moisture content, doubling the normal time of fumigation leads to a loss of germinative power of 5 p. 100 of the initial value ;

- finally, at 8 p. 100 moisture, germinative faculty declines by 4 p. 100 when simply the normal treatment is given.

An 8 p. 100 moisture content is therefore a limit above which the disinsectization of groundnut seeds by MB should be ruled out. If the humidity is higher it can only be used without harmful consequences by bringing other parameters of the treatment below the levels at which the insects are eliminated, failing which the seed quality of the lots treated would be seriously lessened.

The evaluation of seed viability by the tetrazolium test has made possible a more precise determination of MB toxicity symptoms. They were particularly marked for seeds with a high moisture content treated for 12 to 24 hours. Necroses appeared on the embryos (plumule and radicle) and even more on the cotyledons, where the surface was completely dead (grey-white in the tetrazolium test) and covered badly deteriorated cotyledonary tissues which were wine-red.

Cumulative effect (Tables IV, V).

It was found that a dry seed lot (4 p. 100 moisture content) disinsectized by normal exposure to methyl bromide, could only be treated once more with the same fumigant without its seed value diminishing ; any more than that, and the germinative power fell sharply : — 20 p. 100 of the initial value by the third treatment.

Germinative energy drops by 10 p. 100 after the second

treatment, to fall to less than 60 p. 100 of its initial value after the third fumigation.

CONCLUSIONS

- The toxicity of methyl bromide for moist groundnut seeds has been verified ; while this fumigant presents no danger for dry seeds (the normal rate of application can even be multiplied by 3 or 4), it should be used with great precaution when the moisture content exceeds 6 p. 100, and proscribed above 8 p. 100.

- The repetition of MB treatments to disinsectize the same seed lot causes a degradation of its seed value by its cumulative effect.

In practice, dry seeds can be given a second treatment without much damage ; on the other hand, if the moisture content is higher than 6 p. 100, it would seem preferable to choose another method or fumigant, e.g. hydrogen phosphide, for the second treatment.

- At the time of the germination or sprouting tests when seed viability is checked, it is recommended that the germinative energy should be noted.

In fact, the latter parameter may show, for certain seeds lots with high germinative power, that they are susceptible to degradation of their seed value ; in such cases, MB fumigation should be avoided, and indeed, so should all other « stressing » treatments.

All these results agree perfectly with the literature on the subject [Monro, 1969 ; Leesch *et al.*, 1979].

It must be mentioned here that certain authors, especially those from Anglo-Saxon countries, consider this fumigant, used as an insecticide, as dangerous for seed treatment.

The fact that in Senegal, and even throughout the Sahel zone, no accident due to the employment of MB has been reported in 15 years, use suggests to us that this unfavourable opinion should be strongly qualified. It is obvious that since the climatic conditions of Mali, for example, are very different from those of Nigeria, the risks of accident are not of the same magnitude in both countries. It is doubtless logical to recommend the use of MB in dry climates and that of hydrogen phosphide in countries where the relative humidity is higher. It might seem simpler to stop using MB at all, but in fact hydrogen phosphide is not suitable for use in dry regions, as its liberation by aluminium phosphide tablets demands a certain relative humidity of the surrounding air. Thus, in Senegal, hydrolysis of the tablets can take several days.

Furthermore, methyl bromide has great advantages as regards its application :

- supplied as a gas, it is easy to inject into the treatment chamber ; in addition, it is the only fumigant which can be used in ultra-rapid treatment such as that in an autoclave ;

- the desired concentration is attained immediately, which shortens the treatment considerably.

Finally, in a study on the resistance of parasites to insecticides conducted in West Africa, there were half as many species resistant to methyl bromide as ones resistant to hydrogen phosphide [F.A.O., 1977].

This alone is ample justification for the continued use of this fumigant wherever conditions permit.

LES SEMENCES D'ARACHIDE

GROUNDNUT SEED • LAS SEMILLAS DE MANI

NUMÉRO SPÉCIAL D'OLÉAGINEUX — FÉVRIER 1983

Numéro entièrement trilingue . Français, Anglais, Espagnol

disponible au prix de 100 FF h.t. (France) ; 120 FF (Etranger)